



## 嘌呤霉素 (Puromycin Dihydrochloride)

### 产品描述

Puromycin 是来源于 *Streptomyces alboniger* 的一种氨基核苷类抗生素, 中文名为嘌呤霉素, 常用于筛选通过质粒转染/转化、病毒感染等方法能表达 pac 基因(puror)的真核或原核多克隆或单克隆细胞。Puromycin 不仅用于稳定细胞株的筛选, 也用于稳定细胞株的维持。本产品的 10mg/mL 包装经过滤除菌, 可以直接用于细胞培养。

Puromycin 的特点是快速作用于细胞, 一般 2 d 内可以杀死 99%的不表达 pac 基因的细胞。

在革兰氏阳性菌、动物或昆虫细胞中, 嘌呤霉素通过抑制蛋白质合成而抑制或杀死细胞。其作用机制为嘌呤霉素是氨酰-tRNA 分子 3'末端的类似物, 能够与核糖体的 A 位点结合并掺入到延伸的肽链中。嘌呤霉素与 A 位点结合后, 不会参与随后的任何反应, 从而导致蛋白质合成的提前终止并释放出 C-末端含有嘌呤霉素的成熟多肽。

Pac 基因表达嘌呤霉素 N-乙酰转移酶(Puromycin N-acetyl-transferase), 该基因是在 *Streptomyces alboniger* 中发现的。如果表达基因, 就会对嘌呤霉素产生抗性, 这一特性目前普遍应用于筛选表达 pac 基因的哺乳动物稳定细胞株等。例如, 很多商业化的慢病毒载体都携带 pac 基因(一般在质粒图谱上标记为 puror), 从而利用嘌呤霉素筛选特定基因的稳定表达细胞株。嘌呤霉素也可以用来筛选表达 pac 基因的大肠杆菌菌株、酵母菌株等。

### 订购信息

产品名称	货号	规格
嘌呤霉素 (Puromycin Dihydrochloride)	AB11L241	25 mg

### 运输与保存

蓝冰运输。-20°C保存, 有效期 24 个月。

### 技术参数

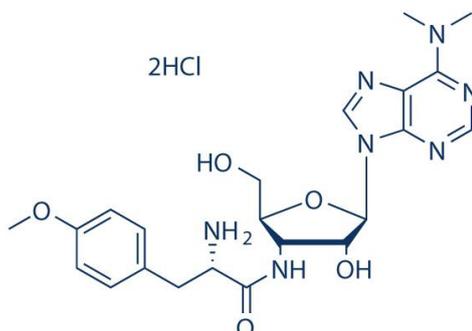
**CAS:** 58-58-2

**分子式:**  $C_{22}H_{29}N_7O_5 \cdot 2HCl$

**分子量:** 544.43

**纯度:** >98%

**结构式:**



### 使用方法

#### 1. 推荐工作浓度:

推荐的作用于哺乳动物细胞的嘌呤霉素浓度一般为 1-10 $\mu$ g/mL, 但最佳工作浓度需要通过剂量反应曲线来确定。



表 1. 部分常见哺乳动物细胞的推荐工作浓度表

细胞名称	细胞类型	嘌呤霉素浓度
A549	Lung cancer	1-2 $\mu$ g/mL
B16	Mouse melanocytes	1-2 $\mu$ g/mL
ES cell	Human embryonic stem cells	0.5-5 $\mu$ g/mL
H1299	Non-small cell lung carcinoma	1-3 $\mu$ g/mL
HEK293	Human embryonic kidney	0.5-3 $\mu$ g/mL
HeLa	Human cervical cancer	1-2 $\mu$ g/mL
HepG2	Human hepatocellular carcinoma	0.5-2 $\mu$ g/mL
HT1080	Human fibrosarcoma	0.5-2 $\mu$ g/mL
MCF-7	Human breast cancer	0.5-2 $\mu$ g/mL
MDA-MB-231	Human breast cancer	0.5-5 $\mu$ g/mL
MEF	Mouse fibroblasts	1-5 $\mu$ g/mL

## 2. 嘌呤霉素剂量反应曲线的确定(以 shRNA 转染或者慢病毒感染为例)

嘌呤霉素的有效筛选浓度跟细胞类型、生长状态、细胞密度、细胞代谢及细胞所处细胞周期等因素相关。为了筛选到稳定表达的 shRNA 或感染病毒的细胞株, 确定杀死未转染/感染细胞的最低浓度嘌呤霉素非常重要。对于初次使用的细胞, 需要通过实验来确定适合自身实验体系的剂量反应曲线(dose-response curve or kill curve)。

- (1) 第一天: 24 孔板中以 5~8 $\times$ 10<sup>4</sup>cells/孔的密度接种细胞, 接种够量的孔以便进行后续的剂量梯度实验。细胞培养箱内培养过夜。
- (2) 第二天: 在培养过夜后的细胞中更换新鲜配制的筛选培养基, 该筛选培养基为含不同浓度嘌呤霉素的新鲜培养基(如 0、1、2.5、5、7.5、10 $\mu$ g/mL 等), 更换培养基后在细胞培养箱中继续培养。
- (3) 第三天: 由于嘌呤霉素可以快速作用于细胞, 一般 2 d 内可以杀死 99% 的未表达 pac 基因的细胞, 所以在加嘌呤霉素后的 1-2 d 就可以进行观察细胞存活率, 从而确定有效杀死正常细胞的药物最低浓度。如果细胞耐药性比较强, 需要每日观察, 一般 4-10 d 内即可确定嘌呤霉素的最低浓度。

## 3. 哺乳动物稳定表达细胞株的筛选

转染含有 pac 基因的质粒或者感染含有该基因的病毒后, 即可筛选稳定表达株。

- (1) 细胞转染或感染 48 h 后, 将细胞置于含有适当浓度嘌呤霉素的新鲜培养基中培养, 此为处理组。【注】: 当细胞处于分裂活跃期时, 抗生素作用最明显。细胞过于密集, 抗生素产生的效力会明显下降, 所以细胞的密度最好不超过 25%。建议同时做一个正常细胞的对照组。转染或感染 48 h 后, 如果细胞过密也可以消化后重新接种细胞, 培养过夜后即可进行嘌呤霉素筛选。
- (2) 每隔 2-3 d, 更换含有嘌呤霉素的培养基。
- (3) 筛选 7 d 后, 对照组正常细胞应该 100% 死亡, 处理组中存活的细胞为表达 pac 基因的细胞。然后根据实验目的进行多克隆或单克隆细胞的筛选。【注】: 每日进行细胞生长状态的观察。嘌呤霉素的筛选至少需要 24 h, 有效浓度嘌呤霉素的筛选周期一般在 2-10 d。
- (4) 待细胞可以稳定生长后, 嘌呤霉素的浓度可以减半用于后续的培养。在得到稳定表达细胞株后, 一般建议嘌呤霉素也须持续加入, 并 2-3 d 更换含有嘌呤霉素的新鲜培养液。

## 注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 用于细胞实验, 溶解后, 须用一次性针头过滤器过滤除菌。
3. 抗生素不稳定, 请在有效期内尽快使用。
4. 以上数据均来自公开文献, 和元李记暂未对本产品进行独立验证, 仅供参考。